

06.10.2004

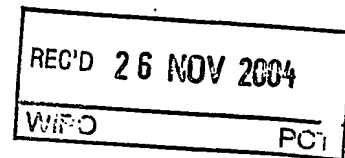
日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日  
Date of Application: 2003年 9月26日

出 願 番 号  
Application Number: 特願2003-335639  
[ST. 10/C]: [JP 2003-335639]



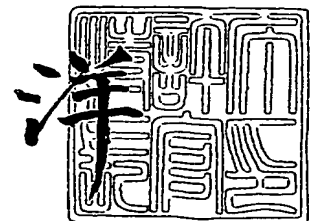
出 願 人  
Applicant(s): 中外製薬株式会社

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2004年11月11日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小 川



【書類名】 特許願  
【整理番号】 031957  
【提出日】 平成15年 9月26日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 A61K 31/343  
【発明者】  
    【住所又は居所】 静岡県御殿場市駒門 1 丁目 1 3 5 番地 中外製薬株式会社内  
    【氏名】 進士 修  
【発明者】  
    【住所又は居所】 東京都中央区京橋 2 丁目 1 番 9 号 中外製薬株式会社内  
    【氏名】 小森 利彦  
【発明者】  
    【住所又は居所】 東京都北区浮間 5 丁目 5 番 1 号 中外製薬株式会社内  
    【氏名】 海瀬 浩  
【発明者】  
    【住所又は居所】 静岡県御殿場市駒門 1 丁目 1 3 5 番地 中外製薬株式会社内  
    【氏名】 武田 美奈子  
【発明者】  
    【住所又は居所】 静岡県御殿場市駒門 1 丁目 1 3 5 番地 中外製薬株式会社内  
    【氏名】 川邊 良樹  
【特許出願人】  
    【識別番号】 000003311  
    【氏名又は名称】 中外製薬株式会社  
【代理人】  
    【識別番号】 100089705  
    【住所又は居所】 東京都千代田区大手町二丁目 2 番 1 号 新大手町ビル 2 0 6 区  
    ユアサハラ法律特許事務所  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 社本 一夫  
    【電話番号】 03-3270-6641  
    【ファクシミリ番号】 03-3246-0233  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100076691  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 増井 忠式  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100075270  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 小林 泰  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100080137  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 千葉 昭男  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100096013  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 富田 博行

【選任した代理人】

【識別番号】 100098590

【弁理士】

【氏名又は名称】 中田 隆

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 051806

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 特許請求の範囲 1

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

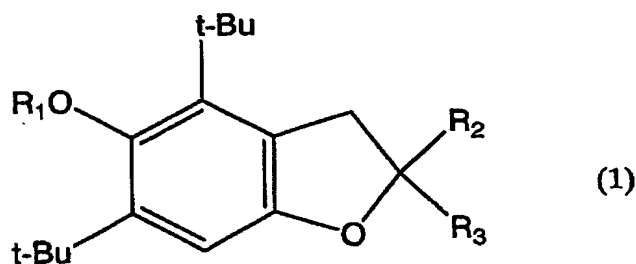
【包括委任状番号】 0107764

【書類名】 特許請求の範囲

【請求項 1】

式 (1) :

【化 1】



(式中、

R<sup>1</sup> は、水素原子、アシル基、又はアリールアルコキシカルボニル基であり；そしてR<sup>2</sup> 及び R<sup>3</sup> は、独立して、置換若しくは未置換のアルキル基、置換若しくは未置換のアルケニル基、又は置換若しくは未置換のアルキニル基であるか、又は R<sup>2</sup> と R<sup>3</sup> が一緒になってシクロアルキル基を形成してもよい。)

で表される化合物を有効成分として含んでなる、脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療のための医薬組成物。

【請求項 2】

R<sup>1</sup> が水素原子である、請求項 1 記載の組成物。

【請求項 3】

R<sup>2</sup> 及び R<sup>3</sup> が未置換のアルキル基である、請求項 1 記載の組成物。

【請求項 4】

未置換のアルキル基が、n-ブチル基、n-ペンチル基、n-ヘキシル基又は n-ヘプチル基である、請求項 3 記載の組成物。

【請求項 5】

式 (1) で表される化合物が、4, 6-ジ-tert-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-n-ブチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン、4, 6-ジ-tert-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-n-ペンチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン、4, 6-ジ-tert-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-n-ヘキシル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン、又は 4, 6-ジ-tert-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-n-ヘプチル-2, 3-ジヒドロベンゾフランである、請求項 1 記載の組成物。

【請求項 6】

式 (1) で表される化合物が 4, 6-ジ-tert-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-n-ペンチル-2, 3-ジヒドロベンゾフランである、請求項 5 記載の組成物。

【請求項 7】

肝疾患の予防及び／又は治療が肝酵素の漏出を抑制することによる、請求項 1 記載の組成物。

【請求項 8】

脂肪肝が非アルコール性脂肪肝である、請求項 1 記載の組成物。

【請求項 9】

肝疾患が脂肪肝にともなう肝疾患である、請求項 1 記載の組成物。

【請求項 10】

脂肪肝が非アルコール性脂肪肝である、請求項 9 記載の組成物。

【請求項 11】

肝疾患が細菌性又は化学物質による肝機能障害である、請求項 1 記載の組成物。

【請求項 12】

肝疾患が慢性又は急性の肝炎である、請求項 1 記載の組成物。

## 【請求項 13】

肝炎がウイルス性である、請求項 12 記載の組成物。

## 【請求項 14】

肝疾患が肝硬変である、請求項 1 記載の組成物。

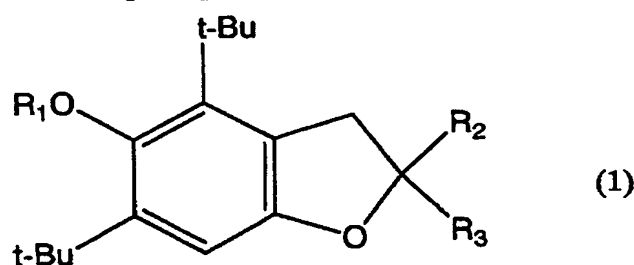
## 【請求項 15】

肝疾患が肝癌である、請求項 1 記載の組成物。

## 【請求項 16】

式 (1) :

## 【化 2】



(式中、

$R^1$  は、水素原子、アシル基、又はアリールアルコキシカルボニル基であり；そして

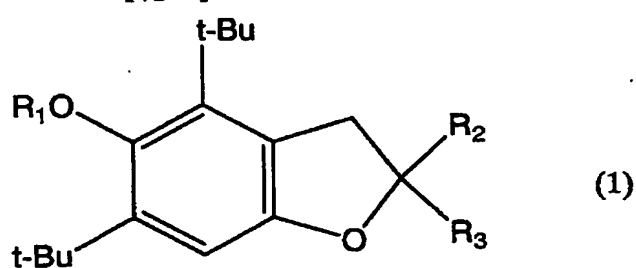
$R^2$  及び  $R^3$  は、独立して、置換若しくは未置換のアルキル基、置換若しくは未置換のアルケニル基、又は置換若しくは未置換のアルキニル基であるか、又は  $R^2$  と  $R^3$  が一緒になってシクロアルキル基を形成してもよい。)

で表される化合物の、脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療のための医薬組成物の製造における使用。

## 【請求項 17】

式 (1) :

## 【化 3】



(式中、

$R^1$  は、水素原子、アシル基、又はアリールアルコキシカルボニル基であり；そして

$R^2$  及び  $R^3$  は、独立して、置換若しくは未置換のアルキル基、置換若しくは未置換のアルケニル基、又は置換若しくは未置換のアルキニル基であるか、又は  $R^2$  と  $R^3$  が一緒になってシクロアルキル基を形成してもよい。)

で表される化合物を脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療を必要とする患者に投与することを含んでなる、脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療のための方法。

## 【書類名】明細書

【発明の名称】脂肪肝又は肝疾患を治療するための医薬組成物

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療のための医薬組成物、及び脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療のための方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

肝臓は、その代謝活性によって薬物や毒物などの代謝／解毒を行う重要な臓器である。また、コレステロールのような生体維持に必要な物質を一定の濃度で血中に維持するための調節臓器としても重要である。

肝臓での代謝は、肝細胞の小胞体で行われる。この小胞体は、肝細胞の小器官のうちで最も多くの脂質を含んでいるので、そこでの脂質の過酸化の頻度は、肝臓の他の部分よりも高いと考えられる。そして、この小胞体で生じる過酸化脂質が、肝障害の臨床的に重要な原因であることが報告されている（内山充、松尾光芳、嵯峨井勝編、過酸化脂質と生体、P293-295、1985、学会出版センター、東京）。

## 【0003】

また、近年、肝在住マクロファージであるクッパ細胞のような、肝類洞壁を構成する細胞も、肝疾患の原因や病態に重要な役割を果たすことが報告されている（井上正康編、活性酸素と病態－疾患も出るからベッドサイドへ、P379-390、1992、学会出版センター、東京）。例えば、クッパ細胞の活性化によって発生するフリーラジカルが細胞障害を引き起こして、肝疾患の発生や進展につながると考えられている。

さらに、アルコールの過剰摂取を原因とするアルコール性脂肪肝の進展に、アルコール代謝にともなって発生するフリーラジカルが重要な役割を果たすことが報告されている（Par A, Roth E, Rumi G, Kovacs Z, Nemes J, Mozsik G. Oxidative stress and antioxidant defense in alcoholic liver disease and chronic hepatitis C. *Orv Hetil* 2000 141:1559-655）。発生したフリーラジカルが、肝細胞の障害を引き起こすと考えられる。

これら報告から、種々の肝疾患の発症もしくは進展には、ラジカルによる脂質過酸化を包含する酸化ストレスが関与し、それが細胞に傷害を与えられと考えられる。こうしたことから、酸化ストレスを低下させ得る物質、即ち、抗酸化性物質が、種々の肝疾患の予防又は治療に有効であると期待されてきた。このため、抗酸化性物質を使用して多くの臨床研究が進められてきた。

## 【0004】

しかしながら、抗酸化性物質は、肝疾患における酸化ストレスの増大を示していた種々の指標を低下させたものの（Loguercio C, Federico A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. *Free Radic Biol Med* 2003 34:1-10; Zima T, Fialova L, Mestek O, Janeva M, Crkavka J, Malbohan I, Stipek S, Mikulikova L, Popov P. Oxidative stress, metabolism of ethanol and alcohol-related diseases. *J Biomed Sci* 2001, 8:59-70; Prince MI, Mitchison HC, Ashley D, Burke DA, Edwards N, Bramble MG, James OF, Jones DE. Oral antioxidant supplementation for fatigue associated with primary biliary cirrhosis: results of a multicentre, randomized, placebo-controlled, cross-over trial. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003 17:137-43）、それは、単に酸化ストレスの増大を抑制しただけで、肝疾患そのものを改善したものではなかった。このことは、ラジカルで起こる脂質過酸化による傷害から肝細胞を保護する能力を有する抗酸化ビタミンについても同様であった（Prince MI, Mitchison HC, Ashley D, Burke DA, Edwards N, Bramble MG, James OF, Jones DE. Oral antioxidant supplementation for fatigue associated with primary biliary cirrhosis: results of a multicentre, randomized, placebo-controlled, cross-over trial. *Aliment Pharmacol Ther.* 2003 17:137-43; Houghlum K, Venkataramani A, Lyche K, Chojkier M. A pilot study of the effects of d-alpha-tocopherol on hepatic stellate cell activation in chronic hepatitis

C. Gastroenterology. 1997 113:1069-73)。

【0005】

なお、抗酸化ビタミンは、非アルコール性脂肪肝にともなう肝疾患への効果についても検討されているが未だ結論は得られていない(Lavine JE. Vitamin E treatment of nonalcoholic steatohepatitis in children: a pilot study. J Pediatr. 2000 136:734-8; Hasegawa T, Yoneda M, Nakamura K, Makino I, Terano A. Plasma transforming growth factor-beta level and efficacy of alpha-tocopherol in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. Aliment Pharmacol Ther. 2001 15:1667-72)。  
非アルコール性脂肪肝は、近年、糖尿病及び肥満の増加にともなって増加している脂肪肝であって、それによる肝疾患に有効な治療薬が存在しないことが指摘されている (Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. N Engl J Med. 2002 346:1221-31)。

これら検討結果は、肝細胞をラジカルによる傷害から保護するだけでは、肝疾患の予防及び治療に十分ではないことを示唆している。

【0006】

本発明者らは、4, 6-ジ-tert-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-n-ペンチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン (以下、BO-653という) が低比重リポタンパク (LDL) の酸化を抑制するため動脈硬化に有効であることを報告した (Cynshi O, Kawabe Y, Suzuki T, Takashima Y, Kaise H, Nakamura M, Ohba Y, Kato Y, Tamura K, Hayasaka A, Higashida A, Sakaguchi H, Takeya M, Takahashi K, Inoue K, Noguchi N, Niki E, Kodama T. Antiatherogenic effects of the antioxidant BO-653 in three different animal models. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 95:10123-8)。また、本発明者らは、BO-653とその類似化合物が、抗酸化作用及び脂質過酸化抑制作用を有するため、動脈硬化症の治療剤として有用であること、及び、心筋梗塞、脳卒中等の虚血性臓器障害の治療に有用であること (特開平6-206842号公報; 米国特許第5574178号)、血管内膜肥厚抑制剤として及び経皮的冠動脈形成術 (PTCA) 後の再狭窄抑制剤として有用であること (特開平9-188619号公報; 米国特許第6103753号)、臓器疾患の治療又は予防剤、及び臓器保存剤として有用であること (特開平10-72458号公報; 米国特許第6133279号)、粥状動脈硬化症又は黄色腫症の予防又は治療剤として有用であること (特開平11-21238号公報; 米国特許第6156793号; 米国特許第6417225号)、及び急性冠症候群の発生頻度の低減又は症状の低減のための薬剤として有用であること (WO03/018001) を開示した。

しかしながら、BO-653及びその類似化合物が、脂肪肝又は肝疾患の予防及び/又は治療剤として有用であるとの開示も示唆もされていない。

【特許文献1】 特開平6-206842号公報

【特許文献2】 米国特許第5574178号

【特許文献3】 特開平9-188619号公報

【特許文献4】 米国特許第6103753号

【特許文献5】 特開平10-72458号公報

【特許文献6】 米国特許第6133279号

【特許文献7】 特開平11-21238号公報

【特許文献8】 米国特許第6156793号

【特許文献9】 米国特許第6417225号

【特許文献10】 WO03/018001

【非特許文献1】 内山充、松尾光芳、嵯峨井勝編、過酸化脂質と生体、P293-295、1985、学会出版センター、東京

【非特許文献2】 井上正康編、活性酸素と病態-疾患も出るからベッドサイドへ、P379-390、1992、学会出版センター、東京

【非特許文献3】 Par A, Roth E, Rumi G, Kovacs Z, Nemes J, Mozsik G. Oxidative stress and antioxidant defense in alcoholic liver disease and chronic hepatitis C. Orv Hetil 2000 141:1559-655

【非特許文献4】Loguercio C, Federico A. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis. Free Radic Biol Med 2003 34:1-10

【非特許文献5】Zima T, Fialova L, Mestek O, Janeva M, Crkovka J, Malbohan I, Stipek S, Mikulikova L, Popov P. Oxidative stress, metabolism of ethanol and alcohol-related diseases. J Biomed Sci 2001, 8:59-70

【非特許文献6】Prince MI, Mitchison HC, Ashley D, Burke DA, Edwards N, Bramble MG, James OF, Jones DE. Oral antioxidant supplementation for fatigue associated with primary biliary cirrhosis: results of a multicentre, randomized, placebo-controlled, cross-over trial. Aliment Pharmacol Ther. 2003 17:137-43

【非特許文献7】Houglum K, Venkataramani A, Lyche K, Chojkier M. A pilot study of the effects of d-alpha-tocopherol on hepatic stellate cell activation in chronic hepatitis C. Gastroenterology. 1997 113:1069-73

【非特許文献8】Lavine JE. Vitamin E treatment of nonalcoholic steatohepatitis in children: a pilot study. J Pediatr. 2000 136:734-8

【非特許文献9】Hasegawa T, Yoneda M, Nakamura K, Makino I, Terano A. Plasma transforming growth factor-beta1 level and efficacy of alpha-tocopherol in patients with non-alcoholic steatohepatitis: a pilot study. Aliment Pharmacol Ther. 2001 15:1667-72

【非特許文献10】Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. N Engl J Med. 2002 346:1221-31

【非特許文献11】Cynshi O, Kawabe Y, Suzuki T, Takashima Y, Kaise H, Nakamura M, Ohba Y, Kato Y, Tamura K, Hayasaka A, Higashida A, Sakaguchi H, Takeya M, Takahashi K, Inoue K, Noguchi N, Niki E, Kodama T. Antiatherogenic effects of the antioxidant BO-653 in three different animal models. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998 95:10123-8

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本発明の目的は、脂肪肝又は肝疾患、特に脂肪肝又は脂肪肝にともなう肝疾患の予防及び／又は治療のための医薬組成物、及び脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療のための方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

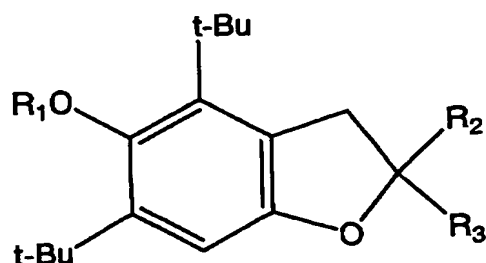
【0008】

本発明者らは、鋭意研究した結果、高脂肪食給餌により脂肪肝になり、そしてそれにとともなう肝疾患を発症したマウスにおいて、一定の4, 6-ジ-tert-ブチルジヒドロベンゾフラン誘導体が、肝細胞から血中へ漏出する酵素アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（以下、ASTという）の量を抑制するとともに、肝肥大をも抑制することを見出した。

本発明は、式（1）：

【0009】

【化1】



(1)



## 【0010】

(式中、

$R^1$  は、水素原子、アシル基、又はアリールアルコキシカルボニル基であり；そして

$R^2$  及び  $R^3$  は、独立して、置換若しくは未置換のアルキル基、置換若しくは未置換のアルケニル基、又は置換若しくは未置換のアルキニル基であるか、又は  $R^2$  と  $R^3$  が一緒になってシクロアルキル基を形成してもよい。)

で表される化合物を有効成分として含んでなる、脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療のための医薬組成物の発明である。

本発明の一つの態様において、肝傷害による肝酵素の漏出が抑制され、それにともない肝疾患の進行が阻害される。

## 【0011】

本発明の好ましい態様において、肝疾患は脂肪肝にともなう肝疾患であり、より好ましくは、非アルコール性脂肪肝にともなう肝疾患である。

本発明の別の態様において、肝疾患は、細菌性又は化学物質による肝機能障害であり、慢性及び急性の肝炎も包含する。更に別の態様においては、肝疾患はウイルス性肝炎、肝疾患又は肝癌である。

また、本発明は、式(1)で表される化合物の、脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療のための医薬組成物の製造における使用の発明である。

更に、本発明は、式(1)で表される化合物を、脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療を必要とする患者に投与することを含んでなる、脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療のための方法の発明である。

## 【0012】

本発明の式(1)の化合物の  $R^1$  は、水素原子、アシル基又はアリールアルコキシカルボニル基である。好ましいアシル基は、1～10の炭素原子を有するアシル基であり、その例には、ホルミル、アセチル、プロピオニル、及びベンゾイル基が含まれる。好ましいアリールアルキルオキシカルボニル基は、7～11の炭素原子を有するアリールアルキルオキシカルボニル基であり、その例には、ベンジルオキシカルボニル及びナフチルメチルオキシカルボニル基が含まれる。

好ましい  $R^1$  は、水素原子及びアシル基であり、水素原子及びアセチル基がより好ましく、特に水素原子が好ましい。

## 【0013】

式(1)の化合物の  $R^2$  及び  $R^3$  は、独立して、置換若しくは未置換のアルキル基、置換若しくは未置換のアルケニル基、又は置換若しくは未置換のアルキニル基である。

好ましいアルキル基は、1～20の炭素原子を有する直鎖又は分岐鎖状のアルキル基であり、その例には、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*s*-ブチル、*t*-ブチル、*n*-ペンチル、イソペンチル、*sec*-ペンチル、*t*-ペンチル、ネオペンチル、*n*-ヘキシル、イソヘキシル、エチルブチル、*n*-ヘプチル、イソヘプチル、エチルペンチル、*n*-オクチル、エチルヘキシル、プロピルペンチル、ノニル、デシル、ペンタデシル、及びステアリル基が含まれる。より好ましくは、1～10の炭素原子を有する直鎖又は分岐鎖状のアルキル基であり、特に3～8の炭素原子を有する直鎖状のアルキル基が好ましい。

## 【0014】

好ましいアルケニル基は、2～20の炭素原子を有する直鎖又は分岐鎖状のアルキル基であり、その例には、エテニル、プロベニル、イソプロベニル、プテニル、イソプテニル、ペンテニル、イソペンテニル、ヘキセニル、イソヘキセニル、エチルプテニル、ヘプテニル、イソヘプテニル、エチルペンテニル、オクテニル、ノネニル、デセニル、及びペンタデセニル基が含まれる。より好ましくは、2～10の炭素原子を有する直鎖又は分岐鎖状のアルケニル基であり、特に3～8の炭素原子を有する直鎖状のアルケニル基が好ましい。

好ましいアルキニル基は、2～20、好ましくは2～10の炭素原子を有する直鎖又は

分岐鎖状のアルキニル基であり、特に3～8の炭素原子を有する直鎖状のアルキニル基が好ましい。その例には、アルケニル基について挙げた例に対応するアルキニル基が含まれる。

**【0015】**

$R^2$  と  $R^3$  は、一緒になって、5～10の炭素原子を有するシクロアルキル基を形成してもよい。好ましいシクロアルキル基の例には、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、シクロノニル、及びシクロデシルが含まれる。

$R^2$  及び  $R^3$  がアルキル基、アルケニル基、又はアルキニル基である場合に有することができる置換基の例には、ハロゲン、低級アルコキシ、ヒドロキシ、アミノ、ニトロ、及びトリフルオロメチル基が含まれる。

好ましい  $R^2$  及び  $R^3$  は、3～8の炭素原子を有する直鎖状の未置換アルキル基であり、 $R^2$  及び  $R^3$  の双方が、*n*-ブチル基、*n*-ペンチル基、*n*-ヘキシル基又は *n*-ヘプチル基である場合が特に好ましい。 $R^2$  及び  $R^3$  の双方が *n*-ペンチル基である場合が最も好ましい。

**【0016】**

好ましい式(1)の化合物は：

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジメチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジエチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-*n*-プロピル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-イソプロピル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-*n*-ブチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-*s*-ブチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-*t*-ブチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-*n*-ペンチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-*t*-ペンチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-イソペンチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-ネオペンチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-*n*-ヘキシル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-*n*-ヘプチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-*n*-オクチル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-*n*-ノニル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン；及び

4, 6-ジ-*t*-ブチル-5-ヒドロキシ-2, 2-ジ-*n*-デシル-2, 3-ジヒドロベンゾフラン

である。

**【0017】**

特に好ましい式(1)の化合物は、4,6-ジ-tert-ブチル-5-ヒドロキシ-2,2-ジ-*n*-ブチル-2,3-ジヒドロベンゾフラン、4,6-ジ-tert-ブチル-5-ヒドロキシ-2,2-ジ-*n*-ペンチル-2,3-ジヒドロベンゾフラン、4,6-ジ-tert-ブチル-5-ヒドロキシ-2,2-ジ-*n*-ヘキシル-2,3-ジヒドロベンゾフラン、及び4,6-ジ-tert-ブチル-5-ヒドロキシ-2,2-ジ-*n*-ヘプチル-2,3-ジヒドロベンゾフランであり、4,6-ジ-tert-ブチル-5-ヒドロキシ-2,2-ジ-*n*-ペンチル-2,3-ジヒドロベンゾフランが最も好ましい。

#### 【0018】

本発明で用いられる式(1)で表される化合物は、たとえば、特開平6-206842号公報、それに対応する米国特許第5574178号、WO02/06263、それに対応するEP1304328Aのほか、Tamura K, Kato Y, Ishikawa A, Kato Y, Himori M, Yoshida M, Takashima Y, Suzuki T, Kawabe Y, Cynshi O, Kodama T, Niki E, Shimizu M. Design and synthesis of 4,6-di-tert-butyl-2,3-dihydro-5-benzofuranols as a novel series of antiatherogenic antioxidants. J Med Chem. 2003 46:3083-93等に記載の方法によって合成することができる。

#### 【0019】

本発明において肝疾患とは、肝臓を構成する細胞の傷害によりASTなどの肝酵素の漏出を伴う疾患である。具体的には、脂肪肝にともなう肝疾患、非アルコール性脂肪肝にともなう肝疾患(nonalcoholic fatty liver disease)、細菌性又は化学物質による肝機能障害、慢性又は急性の肝炎、ウイルス性肝炎、肝硬変、肝癌、脂肪肝等が含まれる。肝細胞からの酵素漏出は、クッパ細胞の活性化、高脂血症などによる肝代謝亢進、感染など種々の原因により肝細胞が傷害を受けて細胞内酵素を血中に漏出することを意味し、肝疾患の発症及び進展に伴って増大する。本発明の化合物による肝酵素の漏出抑制作用は、肝細胞の傷害を抑制した結果であると考えられる。

#### 【0020】

本発明の医薬組成物は、有効成分である式(1)で表される化合物に、投与経路に応じ、生理的に許容される固体又は液体の製剤担体を配合し、各種の剤形に調製することができる。投与経路には、経口投与、静脈注射などの非経口投与、徐放性製剤による徐放性投与、及び局所投与カテーテルなどによる局所投与が含まれる。製剤担体には、通常用いられる賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、被覆剤、溶解補助剤、乳化剤、懸濁化剤、安定化剤、油脂及び溶剤が含まれる。剤形には、錠剤、顆粒剤、丸剤、カプセル剤、水剤、シロップ剤、懸濁剤、乳濁剤及び注射剤が含まれる。具体的には、従来報告されているように、シームソフトカプセル(WO00/50029、それに対応するEP1172104Aなど)、シームレスソフトカプセル(WO02/13819、それに対応するEP1314424Aなど)等に製剤することができる。

#### 【0021】

本発明の式(1)で表される化合物の投与量は、患者の年齢、症状の重篤度、投与経路などによって変動するが、例えば、一日あたり成人で1~1000mg、好ましくは10~200mgである。この量は、1回に纏めて投与しても、数回に分けて投与してもよい。

#### 【発明の効果】

#### 【0022】

本発明により、脂肪肝モデルにおいて肝細胞からの酵素の漏出を抑制するとともに、肝肥大を抑制することができ、従って、肝疾患、特に脂肪肝にともなう肝疾患の予防及び/又は治療に有用な医薬組成物が提供される。

#### 【実施例】

#### 【0023】

#### 試験例1：高脂肪食給餌されたアポAⅠ過剰発現マウスへのBO-653の作用

脂肪肝及びそれにともなう肝疾患へのBO-653の治療活性を、高脂肪食を給餌して脂肪肝を発症させ更に肝疾患を発症させたアポAⅠ過剰発現マウスを使用して検討した。

アポA I、即ち、アポリポタンパクA Iは、マウスを含むげっ歯類の血中脂質代謝の主体となる高密度リポタンパクを構成するアポリポタンパクである。これを過剰に発現するマウスは、もともと血中コレステロール値が高いため、脂肪肝を発症させるために高脂肪食を給餌しても、血中コレステロールの増加が相対的に少ない。そのようなマウスは、脂肪肝及びそれにともなう肝疾患へのBO-653の治療活性を評価するに際して、血中コレステロールの変動による試験結果への影響を考慮しないで済むから好都合である。

アポA I過剰発現マウス（雌、10～11週令、Jackson Laboratoriesより購入したもの）を各々がN匹からなる4グループに分け、それぞれのグループの動物に、通常食、高脂肪食、0.6%BO-653含有高脂肪食（以下、B+高脂肪食という）、及び0.5%プロブコール含有高脂肪食（以下、P+高脂肪食という）を給餌した。高脂肪食の組成を表1に示す。

【0024】

【表1】

高脂肪食の組成 (%)

ショ糖	50.00
ミルクカゼイン	20.00
カカオバター	15.00
ミネラル混合 (AIN-76)	5.00
セルロース	4.95
コレステロール	1.25
コーン油	1.00
ビタミン混合 (AIN-76)	1.00
塩化コリン	1.00
コール酸ナトリウム	0.50
DL-メチオニン	0.30
合計	100.00

【0025】

B+高脂肪食及びP+高脂肪食は、上記組成の高脂肪食から予めそれぞれ0.60%及び0.50%相当量のセルロースを減じたものに、対応量のBO-653及びプロブコールを添加することにより調製された。プロブコールは脂溶性の抗酸化性物質である。このように、高脂肪食にプロブコールを含有させた試験を含めたのは、BO-653による脂肪肝及びそれにともなう肝疾患への治療活性が、従来から肝疾患の治療に有効であると考えられてきた抗酸化性物質による肝細胞傷害への保護作用とは異なることを示すためである。

それぞれのグループへの給餌開始から37週後に、各々の動物について、エーテル麻酔下で開腹して下行大静脈から採血を行った。採取した血液から血清を分離し、その血清中のAST及び総コレステロールをオートアナライザー (COBS FARALLI ROCHE) で測定した。また、開腹/採血した動物の全身を生理食塩水で灌流した後、肝重量を測定した。結果を表2に示す。

【0026】

【表2】

表2: 高脂肪食給餌されたアポA I 過剰発現マウスへのBO-653の作用

グループ	通常食	高脂肪食	B+高脂肪食	P+高脂肪食
N	5	7	7	8
肝重量 (mg)	1299 ± 27**	3163 ± 121	2789 ± 106*	2923 ± 185
A S T (U/L)	36 ± 1**	242 ± 26	96 ± 7**	218 ± 18
総コレステロール (mg/dL)	198 ± 5**	349 ± 29	353 ± 32	203 ± 10**

平均値 ± 標準誤差、\*: P<0.05, \*\*: P<0.01

## 【0027】

表2から分かるように、高脂肪食だけを給餌したグループは、通常食を給餌したグループより肝組織の重量が大きく増加した。また、肝臓の外観が黄色を呈したので、明らかに脂肪肝になったと言える。さらに、血中ASTが通常食グループに比較して約7倍に増加したので、脂肪肝にともなう肝細胞に傷害が発生し、ASTが大量に漏出する状態、即ち、肝疾患を発症したことも明らかである。

一方、B+高脂肪食グループでは、高脂肪食グループに比較して、肝重量が有意に少なく、かつ血中ASTも大きく低下している。これは、BO-653が脂肪肝による肝肥大を抑制し、かつそれにともなう肝疾患の治療にも有効であることを示している。

他方、P+高脂肪食グループでは、肝重量及び血中ASTの低下はB+高脂肪食グループほど大きくない。プロブコールのような抗酸化性物質による肝細胞の保護作用だけでは脂肪肝及びそれにともなう肝疾患の治療に不十分であることが分かる。特に、血中ASTの低下、即ち、肝細胞からのASTの漏出の抑制については、BO-653の作用がプロブコールより数倍高い。これほどの差は、BO-653によるAST漏出抑制作用が、プロブコールによる細胞保護作用とは異なるメカニズムを介するものであることを示唆している。

## 【0028】

また、B+高脂肪食グループの結果は、BO-653によるAST漏出抑制作用が、高い血中総コレステロールに影響されないことを示唆する一方で、P+高脂肪食グループの結果は、血中総コレステロールの低下がAST漏出の抑制に結び付かないことを示唆している。いずれも、AST漏出抑制作用と血中総コレステロールとの間に関係がないことを示唆するものである。

## 【0029】

なお、アポリポタンパクAIを正常に発現するC57BL/6Jマウス（雌、6週令、日本クレアより購入したもの）及び本試験例とは逆にアポリポタンパクAIを発現しないアポAI欠損マウス（雌、10～11週令、Jackson Laboratoriesより購入したもの）を使用して同じように試験した結果、いずれの場合も、高脂肪食だけのグループに比較してB+高脂肪食グループにおける血中ASTは有意に低かった（C57BL/6Jマウス；高脂肪食だけ：275 ± 31, B+高脂肪食：181 ± 18 アポAI欠損マウス；高脂肪食だけ：159 ± 10, B+高脂肪食：85 ± 8）。

更に、アポE欠損マウスを使用してBO-653の効果を試験した。このマウスは、通常食給餌でも高い血中総コレステロールを示すマウスとして知られているが、同時に通常食給餌でも高い血中ASTを示す。試験結果は、BO-653が、血中総コレステロール値の変動をとまわずに、血中ASTだけを低下させるというものであった。

## 【0030】

以上をまとめると、BO-653は、脂肪肝の予防及び治療、さらにそれにともなう肝疾

患の予防及び治療に有用であることが明らかとなった。その作用は、プロブコールのような抗酸化性物質の細胞保護作用とは異なり、肝細胞からのASTの漏出を直接的に抑制するという固有のメカニズムによるものである。このメカニズムは、血中総コレステロールのレベルとも関係がない。

以上の実施例では、式(1)の化合物の代表例としてBO-653を用いたが、本発明はそれら実施例に限定されるものではない。当業者は、BO-653に類似する他の式(1)の化合物も同様な活性を有することを理解するであろう。

【産業上の利用可能性】

【0031】

本発明により、脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療のための医薬組成物並びに方法が提供される。

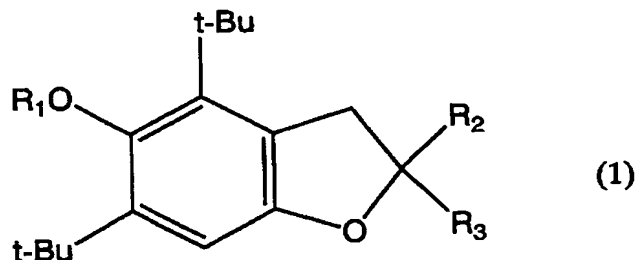
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 脂肪肝又は肝疾患を予防及び／又は治療するための医薬組成物並びに方法が提供される。

【解決手段】 式(1)：

【化1】



(式中、

$R^1$  は、水素原子、アシル基、又はアリアルコキシカルボニル基であり；そして

$R^2$  及び  $R^3$  は、独立して、置換若しくは未置換のアルキル基、置換若しくは未置換のアルケニル基、又は置換若しくは未置換のアルキニル基であるか、又は  $R^2$  と  $R^3$  が一緒になってシクロアルキル基を形成してもよい。)

で表される化合物を有効成分として含んでなる脂肪肝又は肝疾患の予防及び／又は治療のための医薬組成物。

【選択図】 なし

特願 2 0 0 3 - 3 3 5 6 3 9

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 0 0 0 0 0 3 3 1 1 ]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 9 月 5 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都北区浮間 5 丁目 5 番 1 号

氏 名

中外製薬株式会社